

## УРОВЕНЬ ТРИПТОФАНА И СЕРОТОНИНА В УСЛОВИЯХ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Максименко Е. Г., Савченко В.Н.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

### РЕЗЮМЕ

Установлено, что у крыс с высокой аудиогенной судорожной активностью в сравнении с крысами с низким уровнем возбудимости уменьшается уровень серотонина в гипоталамусе, стволе, мозжечке и полушариях головного мозга, а содержание триптофана у крыс уменьшается в мозжечке и гипоталамусе.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** серотонин, триптофан, аудиогенная активность

### ВВЕДЕНИЕ

Для определения уровня триптофана и серотонина в условиях судорожной готовности головного мозга была проведена серия экспериментов на лабораторных крысах линии Крушинского-Молодкиной и беспородных крысах с различным уровнем судорожной активности. В эксперименте использована модель аудиогенной эпилепсии.

Проведенные исследования показали, что уровень серотонина у животных с высоким уровнем возбудимости, а также крыс линии Крушинского-Молодкиной по сравнению с животными с низким уровнем возбудимости значительно ниже. В то же время у крыс линии Крушинского-Молодкиной в мозжечке выявлено снижение уровня триптофана.

Сравнительный анализ уровня серотонина и триптофана в различных областях головного мозга, в группах исследуемых животных позволяет предположить следующее. Снижение уровня серотонина связано как с уменьшением медиатора, переносимого из ствола в другие области головного мозга, так и со снижением скорости биосинтеза или ускоренным превращением в исследуемых областях головного мозга. Снижение же уровня триптофана можно объяснить уменьшением скорости его нейронального захвата или превалированием других путей метаболизма.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения взаимосвязи между судорожной готовностью и содержанием в мозге серотонина и триптофана мы воспользовались моделью аудиогенной эпилепсии. Модель является удобной для исследования нейробиохимических особенностей головного мозга, т.к. дает возможность изучить мозг до возникновения судорог и тем самым исключить сомнение, что наблюдаемые изменения в биохимическом статусе являются следствием приступов, а не предшествуют таковым.

Серия экспериментов выполнена на белых лабораторных крысах линии Крушинского-Молодкиной [1] с высокой аудиогенной судорожной готовностью, а также беспородных крысах, предварительно отобранных по уровню судорожной готовности. Отбор животных по уровню судорожной готовности производили в металлической камере размером 80х40х30 см с крышкой из оргстекла. В качестве звукового раздражителя использовали звучание электрического звонка с длительностью звучания 120 сек. Громкость на уровне пола камеры равнялась 96 дБ. Реакцию животных оценивали в баллах по следующей шкале: 0 баллов - отсутствие двигательного возбуждения и судорожной реакции; 1 балл - вздрагивания и незначительная беговая реакция; 2 балла - выраженная беговая реакция, заканчивающаяся падением животного на живот; 3 балла - выраженное двигательное возбуждение, заканчивающееся падением животного на бок и клоническими судорогами; 4 балла - судорожный припадок с тоническим напряжением всей мускулатуры.

Из тестированных животных мы сформировали две группы: 1<sup>я</sup> группа - животные с высоким порогом аудиогенных судорог (0 баллов, контроль) и 2<sup>я</sup> группа - животные с выраженной эпилептиформной реакцией и, соответственно, высокой аудиогенной судорожной готовностью (3-4 балла). Животных использовали для биохимических исследований не ранее, чем через 2 недели после определения судорожной готовности.

### БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

Животных забивали путем декапитации, мозг быстро извлекали и на холоду разделяли на отделы - полушария, гипоталамус, ствол (продолговатый мозг + варолиев мост) и мозжечок. Ткань взвешивали, размельчали и тщательно растирали в 0,4 М HClO<sub>4</sub> в соотношении 1:10. Гомогенаты выдерживали 60 мин при 4 С, затем центрифугировали в

течение 5 мин при 3000 об/мин при температуре 0 С. Надосадочную жидкость переносили в пробирки и доводили до pH 5-6 с помощью 2 N KOH (на холоду) Вторично центрифугировали в течение 0,5 мин при 3000 об/мин при температуре 0 С. Для определения содержания триптофана и серотонина в экстрактах пользовались методом Endo и Ogura [2, 3, 4]. Разделение проводили на колонке из карбоксиметилцеллюлозы типа CM-52 фирмы Whatman Biochemical (Англия). Колонку (0,6x10 см) уравнивали 0,01 М фосфатным буфером (pH 6,2) и наносили нейтрализованный тканевой экстракт в количестве 1-4 мл. Элюцию проводили при комнатной температуре буфером I (0,01 М фосфатный буфер, pH 6,2) и буфером II (0,03 М фосфатный буфер, pH 6,2). Буфер I (фракция 15 мл) элюировал триптофан, буфер II (фракция 15 мл) элюировал серотонин. Триптофаны и серотонины определяли флуориметрически по собственной люминесценции на спектрофлуориметре МПФ-4А Хитачи. Для анализа использовали длину волны  $\lambda_1 = 303$  нм (длина волны возбуждения) и  $\lambda_2 = 330$  нм (длина волны люминесценции) для серотонина;  $\lambda_1 = 290$  нм (длина волны возбуждения) и  $\lambda_2 = 345$  нм (длина волны люминесценции) для триптофана.

В качестве стандартов были использованы триптофан фирмы BDH и серотонин-креатинин сульфат фирмы Koch-Light Lab. (Англия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования уровня серотонина и триптофана у животных с низким (Н) и высоким (В) уровнем возбудимости, а также у крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ) свидетельствуют о том, что у последних по сравнению с животными группы Н содержание серотонина существенно ниже во всех изученных областях мозга - полушариях, гипоталамусе, стволе и мозжечке (табл. 1).

Это различие является достоверным ( $p < 0,001$ ) и весьма значительным. Так, в полушариях уровень серотонина снижен на 40-60%, в гипоталамусе - на 50-70%, в стволе - на 60-80%, в мозжечке - на 60-80% (рис. 1, 2, 3, 4). Следует отметить, что одновременно у крыс линии КМ в мозжечке и гипоталамусе заметно снижены уровень триптофана - на 30-40% и 40-60% соответственно (табл. 1, рис. 1, 2, 3, 4).

У высоковозбудимых крыс (В), выделенных из общей популяции белых лабораторных крыс и отвечающих выраженной судорожной реакцией на действие аудиогенного раздражителя, также отмечено заметное снижение уровня серотонина в гипоталамусе, стволе и мозжечке. Однако, это снижение менее выражено, чем у линейных крыс КМ (на 20-40%, 25-35% и 20-30% соответственно), уровень достоверности также ниже ( $p < 0,05$ ). В то же время в полушариях крыс группы В уровень серотонина несколько повышен (на 40-50%,  $p < 0,01$ ). Содержание триптофана у крыс группы В достоверно ( $p < 0,05$ ) снижено в мозжечке (рис. 4).

Таким образом, животные с высоким, генетически детерминированным уровнем аудиогенной судорожной готовностью (крысы КМ) характеризуются заметным снижением уровня серотонина во всех исследованных областях головного мозга. У крыс группы В, также обладающих высокой, но не закрепленной генетически (как это имеет место у крыс линии КМ) судорожной готовностью, в гипоталамусе, стволе и мозжечке наблюдаются такие же направленности, хотя и менее выраженные, чем у крыс линии КМ, изменения уровня серотонина. Логично ожидать, что сдвиги со стороны биохимических факторов, причинно связанных с высокой эпилептической готовностью головного мозга, будут более выраженными в группе животных, у которых высокая возбудимость мозга обусловлена генетическими механизмами.

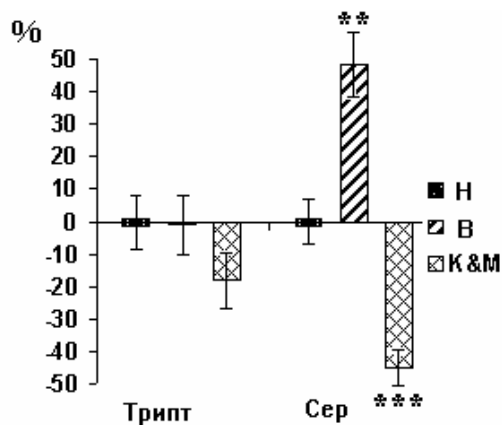
**Таблица 1**

### Содержание триптофана и серотонина в различных областях головного мозга крыс

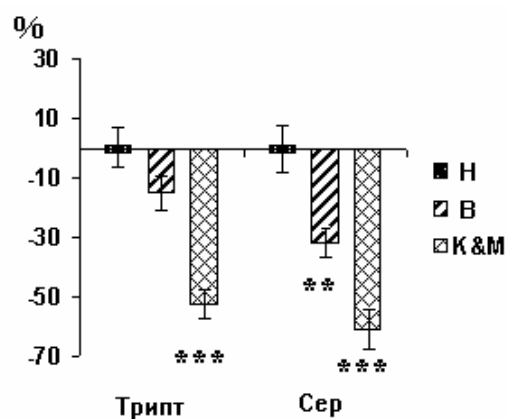
Область мозга	Вещество	Группа животных							
		Н		В		КМ			
		n	нМ/г	n	нМ/г	P (В-Н)	n	нМ/г	P(КМ-Н)
Полушария	Триптофан	8	1.45 ± 0.13	8	1.44 ± 0.14	> 0.05	8	1.20 ± 0.14	> 0.05
	Серотонин	8	1.42 ± 0.11	8	2.10 ± 0.17	< 0.01	8	0.78 ± 0.08	< 0.001
Гипоталамус	Триптофан	8	7.74 ± 0.06	8	6.60 ± 0.56	> 0.05	8	3.73 ± 0.49	< 0.001
	Серотонин	8	11.75 ± 0.91	8	8.00 ± 0.62	< 0.01	8	4.54 ± 0.91	< 0.001
Ствол	Триптофан	8	3.21 ± 0.30	8	3.14 ± 0.39	> 0.05	8	3.98 ± 0.50	> 0.05
	Серотонин	8	9.25 ± 0.85	8	6.52 ± 0.90	< 0.05	8	2.98 ± 0.26	< 0.001
Мозжечок	Триптофан	8	5.16 ± 0.31	8	4.11 ± 0.39	< 0.05	8	3.48 ± 0.47	< 0.01
	Серотонин	8	8.51 ± 0.51	8	6.19 ± 0.51	< 0.01	8	2.50 ± 0.51	< 0.001

n – количество определений

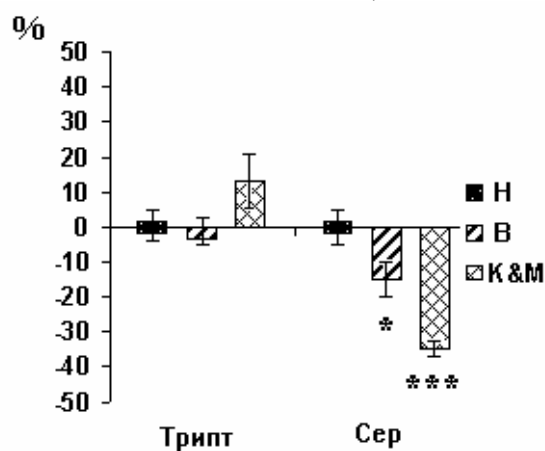
P – достоверность различия между соответствующими группами



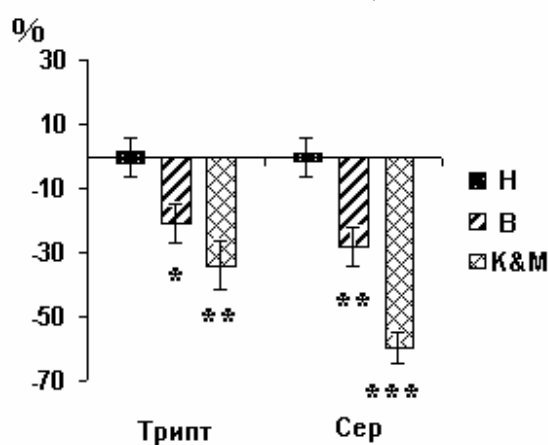
**Рис. 1.** Сравнительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в полушариях крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: \*\* -  $P < 0.01$ , \*\*\* -  $P < 0.001$ .



**Рис. 2.** Относительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в гипоталамусе крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: \*\* -  $P < 0.01$ , \*\*\* -  $P < 0.001$ .



**Рис. 3.** Относительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в стволе мозга крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: \* -  $P < 0.05$ , \*\*\* -  $P < 0.001$ .



**Рис. 4.** Относительное содержание триптофана (Трипт) и серотонина (Сер) в мозжечке крыс групп Н, В и КМ. Данные выражены в % по отношению к группе Н. Условные обозначения: \* -  $P < 0.05$ , \*\* -  $P < 0.01$ , \*\*\* -  $P < 0.001$ .

Исходя из гипотезы о роли серотонина как фактора, сдерживающего возникновение и развитие судорожного процесса в головном мозге, можно предположить, что установленное повышение серотонина в полушариях головного мозга крыс группы В носит компенсаторный характер.

С учетом топографических взаимоотношений в распределении содержащих серотонин нейронов и нервных терминалей, можно высказать предположение, что обнаруженное нами значительное снижение уровня серотонина в стволе мозга при неизменном содержании триптофана свидетельствует о снижении интенсивности биосинтеза серотонина или увеличении скорости его превращения в телах нейронов группы В1-В2 [5]. Снижение уровня серотонина в других исследованных нами областях может явиться следствием как уменьшения количества дан-

ного медиатора, переносимого с аксональным током из ствола в другие области головного мозга, так и ослаблением его биосинтеза или увеличением скорости превращения непосредственно в исследуемых областях. В пользу предположения о снижении интенсивности биосинтеза серотонина у животных с высокой судорожной готовностью свидетельствуют более высокие величины коэффициента  $K1 = \text{триптофан} / \text{серотонин}$  у высоковозбудимых животных, особенно у крыс линии КМ (табл.2). Снижение уровня триптофана в гипоталамусе и мозжечке может быть также связано с уменьшением скорости его нейронального захвата или усилением других (например, кинуренинового) путей метаболизма. Естественно, нельзя исключить и иных возможных механизмов установленных в эксперименте закономерностей.

Таблица 2

Отношение содержания триптофана к серотонину ( $K_1$ ) у крыс с различным уровнем аудиогенной судорожной готовности

Область головного мозга	Группа животных		
	Н	В	КМ
Hemispheres	1.02	0.69	1.54
Hypothalamus	0.66	0.83	0.83
Trunk	0.35	0.48	1.34
Cerebellum	0.61	0.66	1.39

## REFERENCES

1. Крушинский Л.В. Формирование поведения животных в норме и патологии. - М.: Изд-во МГУ. - 1960. - 263 с.
2. Endo Y., Ogura Y. // European J. of Pharmacol. - 1973. - Vol. 21. - P. 293-298.
3. Endo Y., Ogura Y. // Japan J. of Pharmacol. - 1973. - Vol. 23. - P. 149-152.
4. Endo Y., Ogura Y. // Japan J. of Pharmacol. - 1975. - Vol. 25. - P. 319-321.
5. Dahlstrom A., Fuxe K. // Acta physiol. Scand., 1985, - Vol. 64, Suppl. 247, - P. 39-85.

## РІВЕНЬ ТРИПТОФАНУ І СЕРОТОНІНУ В УМОВАХ СУДОМНОЇ ГОТОВНОСТІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Максименко О. Г., Савченко В.М.  
Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

## РЕЗЮМЕ

Встановлено, що у щурів з високою аудіогенною судомною активністю у порівнянні з щурами з низьким рівнем збудливості зменшується рівень серотоніну у гіпоталамусі, стволі, мозжочкові і у півкулях головного мозку, а вміст триптофану у щурів знижується у мозочкові і гіпоталамусі.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** серотонін, триптофан, аудіогенна активність

## THE LEVEL OF TRYPTOPHAN AND SEROTONIN IN THE CONVULSIVE READINESS CONDITIONS OF CEREBRUM

Maksimenko E.G., Savchenko V.N.  
Kharkov National V.N. Karazin University

## SUMMARY

It was determined that the serotonin level in hypothalamus, brain stem, cerebellum and brain hemispheres lowers in rats with high audiogenic spasmodic activity as compared to rats with low excitability level, and the serotonin content in rats decreases in cerebellum and hypothalamus.

**KEY WORDS:** serotonin, triptophane, audiogenic activity